

Aus dem Immunologischen Forschungslabor
der Freien Universität Berlin
Klinikum Steglitz

(Leiter: Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein)

Untersuchung des Einflusses von
Polyäthylensulfat
auf die humorale Immunantwort
bei der Maus

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jürgen Kielmann
aus Pollhagen

1973

Aus dem Immunologischen Forschungslabor
der Freien Universität Berlin
Klinikum Steglitz

(Leiter: Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein)

Untersuchung des Einflusses von
Polyäthylensulfat
auf die humorale Immunantwort
bei der Maus

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jürgen Kielmann
aus Pollhagen

Referent: Prof. Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein

Korreferent: Prof. Dr. med. Ulrich Michael Gross



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

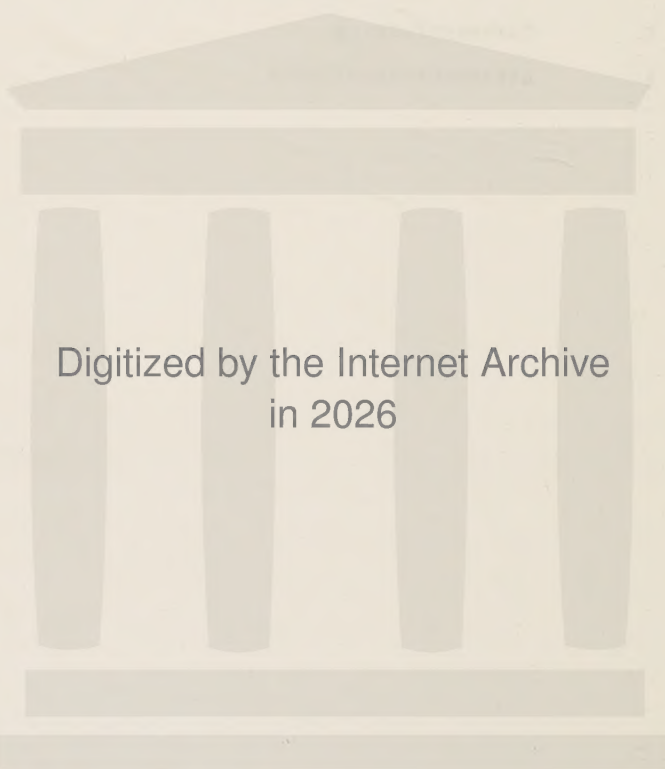
Promoviert am: 22. Juni 1973

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Aufgabenstellung	1
3.	Material und Methoden	2
3.1.	Versuchstiere	2
3.2.	Polyanion	2
3.3.	Antigen	2
3.4.	Komplement	2
3.5.	Seren	3
3.6.	Medium	3
3.7.	Agaroselösung	3
3.8.	Objektträger	4
3.9.	Immunisierung	4
3.10.	Bestimmung der Plaque-forming-cells (PFC)	4
3.11.	Bestimmung der hämolysierenden und agglu- tinierenden Antikörpertiter	5
3.11.1.	Bestimmung der Hämolysintiter	5
3.11.2.	Bestimmung der Hämagglutinintiter	6
3.12.	Statistische Analyse der Ergebnisse	6
4.	Ergebnisse	7
4.1.	Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der PÄS-Applikation nach bzw. vor Immunisie- rung mit SRBC	7
4.2.	Abhängigkeit der Immunantwort von der PÄS-Dosis	9
4.3.	Abhängigkeit der Stimulierung der Immun- antwort durch PÄS 28 von der Antigendosis	12

4.4.	Vergleich verschiedener Applikationswege von SRBC und PÄS 28	14
4.5.	Wirkung von PÄS 28 auf die Kinetik der primären und sekundären Immunantwort	16
4.6.	Der Einfluß des Molekulargewichtes von PÄS auf die Adjuvanswirkung	21
5.	Zusammenfassung	25
6.	Literaturverzeichnis	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Natürliche und synthetische doppelsträngige Polynukleotide erhöhen die Immunantwort in Mäusen, die mit Hammelerythrozyten (SRBC) immunisiert worden sind (1,2,3,4,12). Ausgehend von der Annahme, daß Polynukleotide chemisch negativ geladene polymere Polyanionen sind, erhob sich die Frage, inwieweit die Adjuvanswirkung von Polynukleotiden auf ihren polyanionischen Charakter zurückzuführen ist (9). An Hand einiger Beispiele ließ sich inzwischen zeigen, daß dies in der Tat zuzutreffen scheint, da Polyanionen wie z. B. Dextransulfat (10), Alginsäure (7), Pentosansulfat (6) und andere Polyanionen (5,8) ebenfalls eine deutliche Adjuvanswirkung zeigten.

2. Aufgabenstellung

Nachdem festgestellt werden konnte, daß die Adjuvanswirkung weder von der Art der polyanionischen Gruppe (Sulfat, Carboxylat, Phosphat), noch von der chemischen Natur des Polymers abhängig zu sein scheint, sollte in dieser Arbeit untersucht werden, inwieweit die Adjuvanswirkung eines gegebenen Polyanions von seinem Molekulargewicht abhängig ist. Um diese Frage zu klären, sollte der Einfluß von Polyäthylensulfat (PÄS) gleichen Sulfurierungsgrades, aber unterschiedlicher Molekulargewichte auf die Immunantwort untersucht werden. Gleichzeitig sollten auch die Charakteristika dieser Adjuvantien untersucht werden.

3. Material und Methoden

3.1. Versuchstiere

Versuchstiere waren sechs bis acht Wochen alte spf/NMRI/Han- Mäuse des Zentralinstitutes für Versuchstierzucht Hannover, die mit Altromin R 10 Standardfutter ernährt wurden.

3.2. Polyanion

Als Polyanion kam PÄS (Farbwerke Hoechst) mit den Molekulargewichten 4800 (PÄS 4.8), 8200 (PÄS 8.2) und 28000 (PÄS 28) zur Anwendung.

3.3 Antigen

Hammelerythrozyten (SRBC) der Firma Behring Werke Marburg, die vor Gebrauch 3x mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen wurden, dienten als Antigen. Die für die Immunisierung der Tiere benötigte Anzahl SRBC wurde durch Auszählung in einer Zählkammer bestimmt und der gewünschten Zellkonzentration entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

3.4. Komplement

Als Komplement diente Meerschweinchenkomplement der Firma Behring Werke Marburg.

3.5. Seren

Zur Entwicklung von 7S- Antikörper bildenden Zellen wurde Anti-Maus- γ -Globulin-Serum von Kaninchen (AMG, Behring Werke) und Normal-Kaninchenserum (NS, Firma Difco), um natürliche hämolysierende Antikörper zu entfernen, vor Gebrauch mit SRBC adsorbiert. Die Adsorption erfolgte durch Inkubation gleicher Volumina AMG bzw. NS mit gleichen Volumina gepackter SRBC eine Stunde bei 4° C. Anschließend wurde zentrifugiert und die dabei anfallenden Überstände verwendet.

3.6. Medium

Das Medium wurde aus Eagle's Minimum Essential Medium mit Hanks' Salze (Kat. Nr. 47365 Firma Serva) zubereitet (MEM). 10,7 g MEM Trockensubstanz wurden in 800 ml Phosphatpuffer gelöst (hypertone MEM) und mit aqua dest. auf 1.000 ml aufgefüllt (isotone MEM). Der Phosphatpuffer bestand aus 358 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ und 200 mg $\text{MgCl}_2 \times 16 \text{ H}_2\text{O}$ in 1.000 aqua dest. gelöst.

3.7. Agaroselösung

250 mg Agarose (L'Industrie Biologique Francaise S.A. Charge: A-37 F 9260) wurden in 10 ml aqua dest. im kochenden Wasserbad eine halbe Stunde gelöst. Isotonie wurde erreicht, indem dieser Lösung 40 ml hypertone, auf 50° C angewärmte, MEM zugesetzt wurde.

3.8. Objektträger

Mit reichlich aqua dest. gewaschene und anschließend mit 95 %igem Alkohol gereinigte Objektträger sind durch Eintauchen in eine 0,1 %ige Agaroselösung beschichtet und dann bei 90° C eine Stunde getrocknet worden.

3.9. Immunisierung

Die Mäuse wurden immunisiert, indem ihnen die gewünschte Menge SRBC entweder intravenös (in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert) oder intraperitoneal (in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert) injiziert wurden.

3.10. Bestimmung der Plaque-forming-cells (PFC) in Anlehnung an Jerne (11)

Die Mäuse wurden zu den in den Ergebnissen angegebenen Zeiten nach Immunisierung mit Äther narkotisiert, dekapitiert und entblutet. Die Milzen wurden herauspräpariert, gewogen und in isotoner MEM vorsichtig mit der Pinzette zerquetscht. Durch 3-4 maliges Aufziehen mit einer Spritze (Kanüle Nr. 14) wurde eine Einzelzellsuspension angestrebt, die anschließend durch ein steriles 100-mash Stahlsieb filtriert wurde. Alle diese Operationen sind bei 4° C durchgeführt worden. Bei einer Wasserbadtemperatur von 47° C wurden in Reagenzgläser in der angegebenen Reihenfolge 0,25 ml Agaroselösung, 20 µl 20 %ige SRBC-Suspension und eine variable Menge (20 oder/und 50 µl) Milzzellsuspension einpipettiert, gemischt und zügig auf den vorbehandelten Objektträgern ausgestrichen. Nach 1-2 Minuten erhärtete die Agarose-

lösung mit der Zellsuspension bei Zimmertemperatur.

Anschließend wurden die Objektträger mit MEM überschichtet und eineinhalb Stunden bei 37°C inkubiert.

Um direkte (19S) und indirekte (19S und 7S) Antikörper bildende Zellen zu bestimmen, wurden jeweils zwei Objektträger beschichtet.

Die Platten, auf denen die 19S-PFC bestimmt werden sollten, wurden eine Stunde mit NS im Verhältnis 1:150 mit MEM inkubiert, die Platten für die Bestimmung der 19S- und 7S-PFC mit polyvalentem AMG in einer Verdünnung 1:250 mit MEM inkubiert.

Danach wurden alle Objektträger eine Stunde mit einem komplementhaltigen MEM inkubiert (1 Teil Komplement, 4 Teile MEM).

Die Zählung der Hämolysehöfe bildenden Zellen (PFC) erfolgte mit Hilfe eines Placont-Gerätes.

3.11. Bestimmung der hämolysierenden und agglutinierenden Antikörpertiter

Aus den Seren der Tiere wurde eine logarithmische Verdünnungsreihe zur Basis 2 hergestellt. Zur Bestimmung der 7S- Antikörpertiter wurde einer aliquoten Menge der entsprechenden Seren (0,2 ml) 0,2 ml einer 0,1 molaren Mercaptoäthanollösung zugesetzt und bei 37°C 30 Minuten inkubiert. Unter diesen Bedingungen werden Antikörper der 19S-Klasse zerstört.

3.11.1. Bestimmung der Hämolysintiter in Anlehnung an Sabet (14)

Den Verdünnungsreihen der Seren (0,2 ml) wurde 0,2 ml SRBC-Komplementgemisch zugesetzt (1 %ige SRBC-Suspension,

1:10 verdünntes Komplement, 1:1 gemischt) und die Titer nach einer Stunde bei 37⁰ C im Brutschrank abgelesen.

3.11.2. Bestimmung der Hämagglutinititer in Anlehnung an Sabet (14)

Zur Zerstörung des Eigenkomplements wurden die Seren 30 Minuten bei 56⁰ C inaktiviert. Den Verdünnungsreihen der Seren (0,2 ml) wurde 0,2 ml einer 0,5 %igen SRBC-Suspension zugesetzt und über Nacht bei 4⁰ C inkubiert. Als Agglutinititer wird der reziproke Wert derjenigen Serumverdünnung bezeichnet, bei dem ein Agglutinationsmuster +1 nach Stavitsky (15) auftritt.

3.12. Statistische Analyse der Ergebnisse

Die statistische Analyse der Ergebnisse erfolgte mit dem Wilcoxon Test (13).

4. Ergebnisse

4.1. Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der PÄS-Applikation

Der Zeitpunkt der Gabe von Polyanionen im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung scheint von ausschlaggebender Bedeutung für die Adjuvanswirkung von Polyanionen zu sein (7,10).

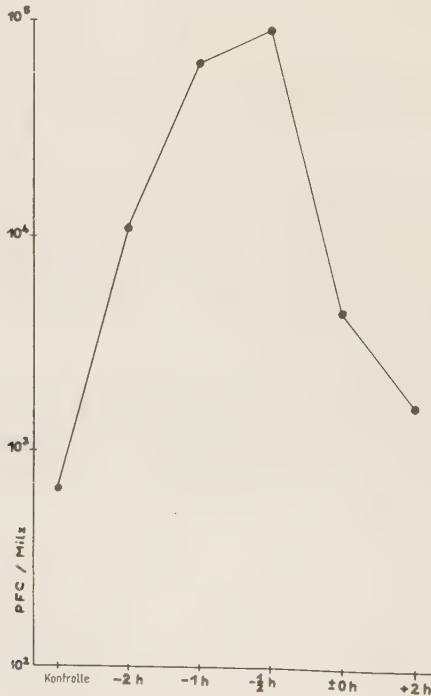
Um den optimalen Zeitpunkt der PÄS-Applikation zu ermitteln, wurde bei mit suboptimalen Antigendosen immunisierten Mäusen zu verschiedenen Zeiten (im Verhältnis zur Immunisierung) PÄS 28 i.p. injiziert.

Nach vier Tagen wurde die Anzahl der 19S-PFC aus den gepoolten Milzen bestimmt.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß eine optimale Stimulierung der Immunantwort (auf das 130 fache) dann erreicht wurde, wenn den Tieren eine halbe Stunde vor Immunisierung Polyäthylensulfat 28 appliziert wurde.

Abb. 1

Bestimmung des optimalen Zeitpunktes der Applikation
von PÄS 28



Die Kontrolltiere wurden mit 2×10^6 SRBC i.p. immunisiert. Den Versuchstieren wurde zu den in der Abb. angegebenen Zeiten vor bzw. nach Immunisierung mit 2×10^6 SRBC 2 mg PÄS 28 i.p. injiziert. Jeder in der Abb. angegebene Wert repräsentiert die Anzahl der PFC von 7 gepoolten Milzen.

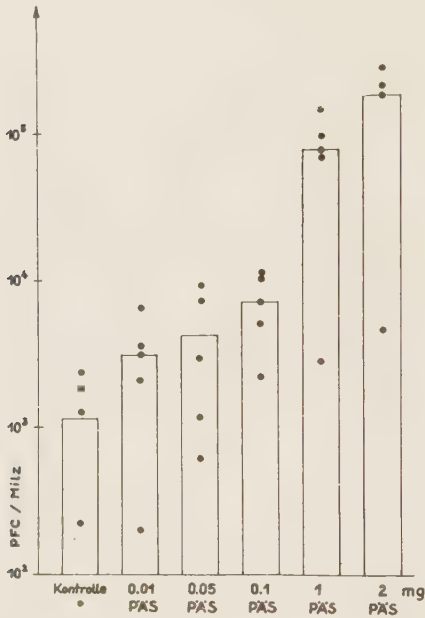
4.2. Abhängigkeit der Immunantwort von der PÄS-Dosis

Um die Dosisabhängigkeit bzw. die optimale Dosis von PÄS 28 zu ermitteln, sind Gruppen von Mäusen entweder eine suboptimale Antigendosis (2×10^6 SRBC) i.p. (Kontrolle) oder eine suboptimale Antigendosis und steigende Mengen PÄS 28 eine halbe Stunde vor Antigengaben i.p. injiziert worden. Das PÄS 28 wurde dabei in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Verwendet wurden die Dosen 0,01, 0,05, 0,1, 1,0 und 2,0 mg. Vier Tage später wurde die Anzahl der 19S-PFC und die gegen SRBC gerichteten hämagglutinierenden Antikörpertiter bestimmt.

Aus den Abb. 2a und 2b geht hervor, daß 2 mg PÄS 28 die optimale Dosis darstellt. Zudem zeigt sich, daß schon 0,1 mg PÄS 28 zu einer signifikanten Erhöhung der Immunantwort führen.

Abb. 2a

Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der
PÄS 28 Dosis.



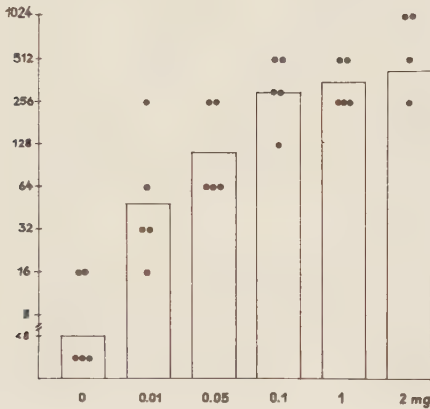
Bestimmung der 19S PFC vier Tage nach Immunisierung.

Statistische Analyse der Ergebnisse

mg PÄS	Kontr.	0,01	0,05	0,1	1,0
0,01	N. S.				
0,05	N. S.	N. S.			
0,1	0,02	0,1	N. S.		
1,0	0,01	0,1	0,1	0,1	
2,0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Abb. 2b

Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der PÄS 28 Dosis.



Bestimmung der gegen SRBC gerichteten Hämagglutininintiter vier Tage nach Immunisierung.

Statistische Analyse der Ergebnisse

mg PÄS	Kontr.	0,01	0,05	0,1	1,0
0,01	0,02				
0,05	0,01	N. S.			
0,1	0,01	0,05	0,1		
1,0	0,01	0,02	0,05	N. S.	
2.0	0,02	0,05	0,05	N. S.	N. S.

4.3. Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort durch PÄS 28 von der Antigendosis

In vorhergehenden Arbeiten konnte gezeigt werden, daß Polyanionen die Immunantwort besonders bei suboptimaler Antigendosis erhöhen (8,9). Hier sollte untersucht werden, ob das auch für PÄS 28 zutrifft.

Dazu wurden Gruppen von jeweils 7 Mäusen mit unterschiedlichen Antigendosen (2×10^6 , 2×10^7 , 2×10^8 , 2×10^9 SRBC) i.p. immunisiert (Kontrolle). Anderen Gruppen von Tieren wurden eine halbe Stunde vor Immunisierung 2 mg PÄS 28 i.p. injiziert.

Nach vier Tagen wurde die 19S-PFC Anzahl in den jeweils gepoolten Milzen der betreffenden Gruppen bestimmt. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, ist die Adjuvanswirkung von PÄS 28 von der Antigendosis abhängig. Die Adjuvanswirkung wird um so ausgeprägter, je weniger Antigen appliziert wurde.

Diese Ergebnisse stehen in voller Übereinstimmung mit den Charakteristika anderer polyanionischer Adjuvantien (7,10).

Abb. 3

Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort durch
PÄS 28 von der Antigendosis



Jeder in der Abb. angegebene Punkt repräsentiert die
Anzahl der 19S-PFC von 7 gepoolten Milzen.

○ Kontrolle (SRBC)

● 2 mg PÄS 28 0,5 h vor SRBC-Injektion

4.4. Vergleich verschiedener Applikationswege von SRBC und PÄS 28

Um zu untersuchen, inwieweit die Adjuvanswirkung vom Weg der Applikation des Antigens bzw. des PÄS abhängig ist, sind Adjuvans und Antigen entweder auf gleichem Wege beide i.p. oder beide i.v. oder auf verschiedenem Wege - i.p. das eine und i.v. das andere und umgekehrt - appliziert worden. Das Antigen wurde in einer Dosis von 2×10^6 SRBC, PÄS 28 in einer Dosis von 2 mg/Maus appliziert. Vier Tage nach Antigengabe ist in den gepoolten Milzen der jeweiligen Gruppe die Anzahl der 19S-PFC bestimmt worden.

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, ist die Adjuvanswirkung von PÄS 28 unabhängig sowohl vom Weg der Applikation dieses Adjuvans als auch vom Applikationsweg des Antigens. Dies scheint eine Besonderheit darzustellen, die bisher nur für zwei andere untersuchte Polyanionen, Dextransulfat und Polyacrylsäure, zutrifft, jedoch nicht für die bisher untersuchten anderen Polyanionen (9,10).

Abb. 4

Vergleich verschiedener Applikationswege von SRBC und PÄS 28



PÄS 28 wurde eine halbe Stunde vor SRBC-Gabe injiziert.
Die Milzen jeder Versuchsgruppe wurden gepoolt.

4.5. Wirkung von PÄS 28 auf die Kinetik der primären und sekundären Immunantwort

Um die Wirkung von PÄS 28 auf die Kinetik der primären und sekundären Immunantwort zu testen, wurden Kontrollgruppen mit 2×10^6 SRBC am 0. und am 30. Tag i.p. immunisiert. Die Versuchsgruppen bekamen eine halbe Stunde vor der SRBC-Injektion 2 mg PÄS 28 ebenfalls am 0. und am 30. Tag i.p. injiziert.

Abb. 5a zeigt, daß sowohl bei der Primärantwort als auch bei der Sekundärantwort die Anzahl der PFC in der Milz gegenüber den Kontrollgruppen stark erhöht ist. Der gleiche Effekt zeigt sich in abgeschwächter Form auch bei den gegen SRBC gerichteten hämolysierenden und agglutinierenden Antikörpertitern (Abb. 5b, 5c). Sowohl bei der Primär- als auch bei der Sekundärantwort wird durch PÄS 28 die Bildung beider Antikörperklassen, 19S und 7S, stimuliert.

Abb. 5a

Wirkung von PÄS 28 auf die Kinetik der 19S- und 19S+7S-Antikörper bildenden Zellen bei der primären und sekundären Immunantwort



Abszisse = PFC/Milz

Ordinate = Tage nach Primärimmunisierung

- ▲ 19S- Antikörper bildende Zellen SRBC und PÄS
- 19S+7S- Antikörper bildende Zellen SRBC und PÄS
- Δ 19S- Antikörper bildende Zellen SRBC
- 19S+7S- Antikörper bildende Zellen SRBC

Tabelle zu Abb. 5a
(mit statistischer Analyse der Ergebnisse)

		PFC / Milz			
		19 S		19 S + 7 S	
		SRBC + PÄS 28	SRBC	p	SRBC
4	57200 (500-130000)	788 (100-3080)	0,1		
5	54000 (24500-94000)	858 (260-2430)	0,01	23300 (9000-39500)	306 (120-420)
7	2300 (500-4500)	804 (40-1900)	0,1	5800 (1000-8000)	704 (60-1960)
14	2176 (940-4080)	150 (60-290)	0,01	9832 (6220-16920)	554 (200-980)
30	425 (120-630)	256 (60-420)	N.S.	732 (220-1020)	286 (190-490)
34	60300 (37500-85000)	3666 (280-8600)	0,01	128100 (118500-136000)	3868 (70-1080)
40	7620 (2400-19300)	400 (30-690)	0,01	18190 (8350-24500)	762 (40-1640)

Tage nach Primärimmunisierung

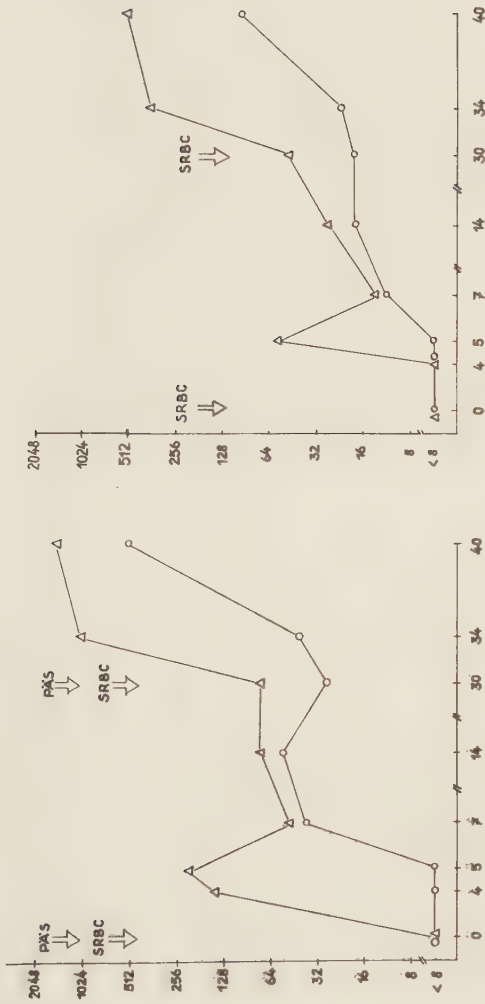


Abb. 5b

Wirkung von P&S 28 auf die Kinetik der gegen SRBC gerichteten hämolysierenden Antikörper-
pertiter bei der primären und sekundären Immunantwort.

Δ 19S+7S hämolysierende Antikörperpertiter
○ 19S hämolysierende Antikörperpertiter

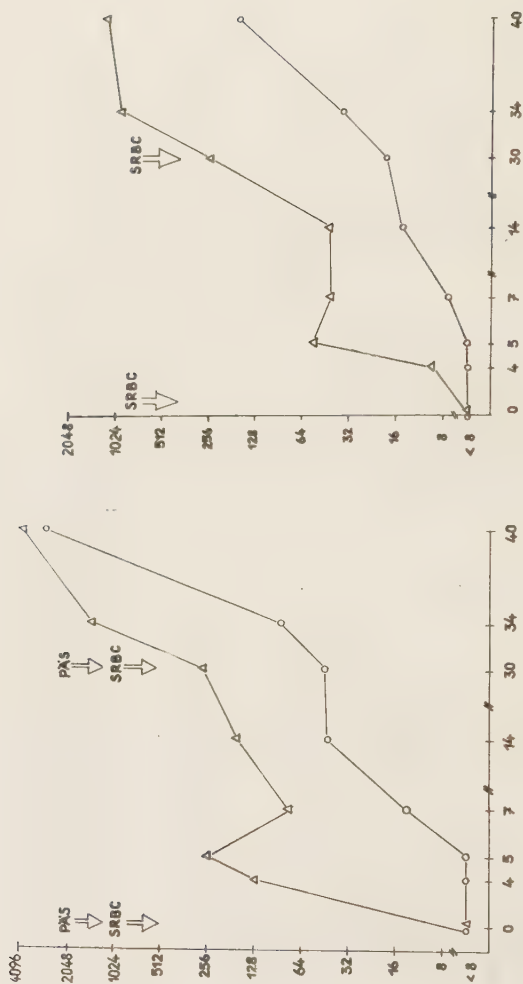


Abb. 5c

Wirkung von PAs 28 auf die Kinetik der gegen SRBC gerichteten agglutininierenden Antikörper-
pertiter bei der primären und sekundären Immunantwort.

Δ 19S+7S agglutininierende Antikörper
o 19S agglutininierende Antikörper

4.6. Der Einfluß des Molekulargewichtes von PÄS auf die Adjuvanswirkung

Für die Durchführung dieses Versuches standen Polyäthylensulfate mit den Molekulargewichten 4800, 8200 und 28.000 zur Verfügung. Die Immunisierung erfolgte mit 2×10^6 SRBC i.p. Eine halbe Stunde vorher wurden den Versuchstieren 2 mg PÄS/Maus verschiedener Molekulargewichte i.p. injiziert. Jede Gruppe bestand aus sechs Tieren. Am vierten Tage nach Immunisierung erfolgte die Bestimmung der PFC und hämolysierenden sowie agglutinierenden Antikörpertiter.

Die Ergebnisse zeigen (Abb. 6a, 6b, 6c), daß die Adjuvanswirkung von PÄS mit steigendem Molekulargewicht zunimmt. PÄS mit dem größten Molekulargewicht (28.000) zeigt die stärkste Adjuvanswirkung.

Abb. 6a

Einfluß des Molekulargewichtes von PÄS auf die
Stimulierung der Immunantwort



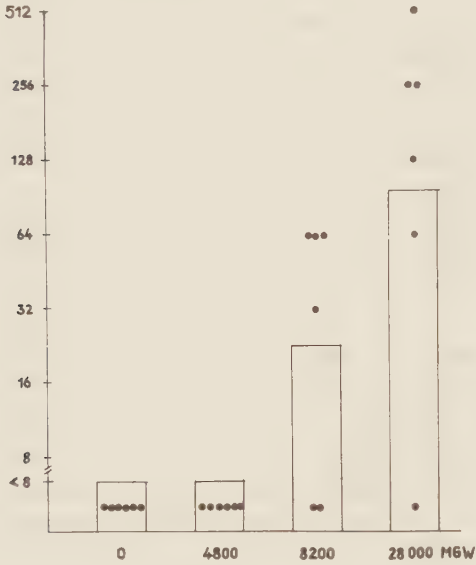
Die Anzahl der Antikörper bildenden Zellen (PFC) ist
vier Tage nach SRBC-Gabe bestimmt worden.

Statistische Analyse der Ergebnisse

		Mgw	Mgw
	Kontr.	4.800	8.200
Mgw 4.800	0,01		
Mgw 8.200	0,01	0,1	
Mgw 28.000	0,01	0,01	0,02

Abb. 6b

Einfluß des Molekulargewichtes von PÄS auf die
Stimulierung des Immunantwort



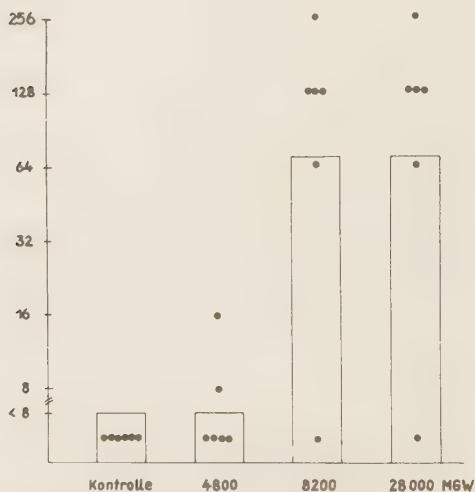
Bestimmung der gegen SRBC gerichteten hämolysierenden
Antikörpertiter vier Tage nach Immunisierung.

Statistische Analyse der Ergebnisse

		Mgw	Mgw
	Kontr.	4.800	8.200
Mgw 4.800	N. S.		
Mgw 8.200	0,05	0,05	
Mgw 28.000	0,02	0,02	0,05

Abb. 6c

Einfluß des Molekulargewichtes von PÄS auf die
Stimulierung der Immunantwort



Bestimmung der gegen SRBC gerichteten Hämagglutininintiter
vier Tage nach Immunisierung.

Statistische Analyse der Ergebnisse

		Mgw	Mgw
	Kontr.	4.800	8.200
Mgw 4.800	N. S.		
Mgw 8.200	0,05	0,05	
Mgw 28.000	0,05	0,05	N. S.

5. Zusammenfassung

Es wurde der Einfluß von drei Polyäthylensulfat (PÄS) - Präparaten gleichen Sulfurierungsgrades (1 Sulfatgruppe/ 2 C Atome), jedoch unterschiedlicher Molekulargewichte (4200, 8200 und 28000), auf die humorale Immunantwort untersucht. Als Testantigen wurden Hammelerythrozyten (SRBC) verwendet. Die Immunantwort ist dabei an Hand der Anzahl der gegen das Testantigen gerichteten Antikörper bildenden Zellen (PFC) in der Milz und der Antikörpertiter (hämolyisierende und agglutinierende) gemessen worden. Es wurden zunächst die Charakteristika der Adjuvanswirkung von Polyäthylensulfat mit einem Molekulargewicht von 28000 (PÄS 28) untersucht.

Es wurden dabei folgende Parameter variiert:

1. Der Einfluß des Zeitpunktes der PÄS 28 Injektion im Verhältnis zum Zeitpunkt der Immunisierung auf die Antikörperbildung, gemessen am 4. Tag nach Immunisierung.
2. Die Abhängigkeit der Stimulierung der Immunantwort von der injizierten PÄS 28 Dosis, gemessen 4 Tage nach Immunisierung.
3. Die Abhängigkeit der Stimulierung der Antikörperbildung von der injizierten Antigendosis bei Injektion einer optimalen PÄS 28 Dosis zum optimalen Zeitpunkt, gemessen am 4. Tag nach Immunisierung.
4. Der Einfluß des Applikationsweges von PÄS 28 und des Antigens auf die Adjuvanswirkung von PÄS 28, gemessen am 4. Tag nach Immunisierung.
5. Der Einfluß von PÄS 28 auf den zeitlichen Verlauf der primären und sekundären Immunantwort unter optimalen Bedingungen, d.h. suboptimale Antigendosis sowohl für die primäre als auch sekundäre Immunantwort und eine zum optimalen Zeitpunkt, auf dem günstigsten Wege applizierte, optimale PÄS 28 Dosis.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. PÄS 28 stimuliert die Immunantwort, wenn es bis zu 2 Stunden vor der Antigenapplikation verabreicht wird. 2 Stunden nach Immunisierung hat PÄS 28 keinen Einfluß auf die Immunantwort. Optimale Stimulierung läßt sich erzielen, wenn man PÄS 28 eine halbe Stunde vor Antigengabe verabreicht.
2. PÄS 28 stimuliert die Immunantwort dosisabhängig von $10\text{ }\mu\text{g}$ bis 2 mg/Maus. Eine optimale Stimulierung ließ sich mit 2 mg/Maus erzielen.
3. Die Stimulierung der Immunantwort ist bei allen Antigendosen (von 2×10^6 bis 2×10^9 SRBC pro Maus) nachweisbar, ist aber desto ausgeprägter, je niedriger die zur Induzierung der Immunantwort verwendete Antigendosis ist. Die relativ höchste Stimulierungsrate (130 fach gegenüber der Kontrolle) ließ sich bei einer Antigendosis von 2×10^6 SRBC erzielen.
4. Der Applikationsweg von PÄS 28 oder des Antigens (i.p. oder i.v.) scheint nicht von wesentlicher Bedeutung für die Adjuvanswirkung von PÄS 28 zu sein. Am besten ließ sich jedoch bei i.p.-Applikation, sowohl des Antigens als auch von PÄS 28, die Immunantwort steigern.
5. Die Untersuchung des Einflusses von PÄS (i.p., 2 mg/Maus, eine halbe Stunde vor primärer bzw. sekundärer Immunisierung) auf die Kinetik der Immunantwort bei suboptimaler Antigendosis (mit 2×10^6 SRBC i.p. primär und sekundär immunisiert) zeigte, daß PÄS 28 sowohl eine Erhöhung der primären als auch der sekundären Antwort verursacht. Es konnte gezeigt werden, daß sowohl die Antikörper der 19S-Klasse ($\text{I}\gamma\text{M}$) als auch die der Klasse 7S ($\text{I}\gamma\text{G}$) in erhöhtem Maße gebildet werden. Außerdem kommt es zu einem zeitlich früheren Erscheinen der Antikörper der Klasse 7S.

Schließlich sind unter optimalen Bedingungen, d.h. bei einer suboptimalen Antigendosis (2×10^6 SRBC/Maus i.p.) und optimaler PÄS-Dosis (2 mg/Maus i.p. eine halbe Stunde vor Antigengabe), die Adjuvanswirkungen dreier PÄS-Präparate gleichen Sulfurierungsgrades, jedoch unterschiedlicher Molekulargewichte (4200, 8200 und 28000) verglichen worden. Es zeigte sich, daß die Adjuvanswirkung von PÄS mit steigendem Molekulargewicht zunimmt.

6. Literaturverzeichnis

1. Braun, W., Ishizuka, M., : Spectrum and mode of action
Yajima, Y., Webb, D. and of poly A:U in the stimula-
Winchurch, R. tion of immune response.
In: Biological Effects of
Polynucleotides
Edited by R. F. Beers and
W. Braun
Springer Verlag New York
139 (1971)
2. Braun, W., Nakano, M. : Antibodyformation: Stimu-
lation by polyadenylic and
polycytidilic acids.
Science 157, 819 (1971)
3. Braun, W., Nakano, L., : Stimulation of antibody-
Jaraskova, L., Yajima, forming cells by oligonu-
Y. and Jiminez, L. cleotides of known compo-
sitions.
In: Nucleic Acids in Immu-
nology
Edited by Plescia, O. J.
and Braun, W. 347 (1968)
4. Braun, W., Regelson, W., : Stimulation of antibody
Yajima, Y. and Ishuzuka, M. formation by pyran copoly-
mer (34433).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
133, 171 (1970)
5. Diamantstein, T. : Chemische Charakteristika
polyanionischer Adjuvantien
Vortrag im Weizmann Insti-
tute of Science (Mai 1972)

6. Diamantstein, T., Malchus, R. and Storck, C. : Stimulation of humoral immune response by pentosan sulfate.
Experientia (1973), im Druck
7. Diamantstein, T., Odenwald, G. and Odenwald, D. : Stimulation of immune response by polymannuronic-guluronic acid in mice.
Experientia 27, 953 (1971)
8. Diamantstein, T., Wagner, B., Beyse, I., Odenwald, M. V. : Zum Mechanismus der Stimulierung der humoralen Antikörperbildung durch Polyanionen.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8. Jg.
632 (Nov. 1970)
9. Diamantstein, T., Wagner, B., Beyse, I., Odenwald, M. V. and Schulz, G. : Stimulation of humoral antibody formation by polyanions.
1. The effect of polyacrylic acid on primary immune response in mice immunized with sheep red blood cells.
Eur. J. Immunol. 1, 335 (1971)
10. Diamantstein, T., Wagner, B., Beyse, I., Odenwald, M. V. and Schulz, G. : Stimulation of humoral antibody formations by polyanions.
2. The influence of sulfate esters of polymers on the immune response in mice.
Eur. J. Immunol. 1, 340 (1971)

11. Jerne, N. K., Nordin, A. A. and Henry, C. : Cell Bound Antibodies
Edited by Amos, B. and
Koprowski, H.
The Wistar Institute Press
Philadelphia 1963
109 (1963)
12. Johnson, A. G., Schmidtke, J., Merritt, K. and Han, J. : Enhancement of antibody
formation by nucleic acids
and their derivatives.
In: Nucleic Acids in Immunology
Edited by Plescia, O. J.
and Braun, W.
379 (1968)
13. Sachs, L. : Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag Berlin
312 (1968)
14. Sabet, T., Newlin, C. and Friedman, H. : Effects of RES "blockade"
on antibody formation.
Immunology 16, 433 (1969)
15. Stavitsky, A. B. : Micromethods for the study of proteins and antibodies.
J. Immunol. 72, 360 (1954)

Herrn Professor Dr. rer. nat. Tibor Diamantstein
danke ich herzlich für die Überlassung des Themas
und die freundliche Hilfe bei der Durchführung
dieser Arbeit.

Lebenslauf

Name: Jürgen Kielmann

Geburtsdatum: 5. Dezember 1946 in

Geburtsort: Pollhagen Kreis Stadthagen

Eltern: Günter Kielmann und Elvira, geb. Hofmann

Schulen: 1953 - 1957 Gerrit-Engelke-Schule
in Hannover

1957 - 1966 Leibniz-Gymnasium
in Hannover

Oktober 1966 Reifeprüfung am
Leibniz-Gymnasium

Studium: 1966 - 1971 Studium der Zahnheilkunde
an der Freien Universität
Berlin

Januar 1972 Approbation als Zahnarzt

Seit April 1972 Tätigkeit
als Assistenzzahnarzt

